Una larva di *Rana esculenta* di circa 30 mm. di lunghezza totale, che presenta l'abbozzo degli arti posteriori, viene esaminata dopo circa 3 giorni di esperimento. Il tubo digerente, macroscopicamente, già mostra di essersi notevolmente ridotto: lo stomaco però non è rotato a sinistra: il diametro dei giri della spirale intestinale si è molto ristretto: macroscopicamente, la coda mostra un maggiore addensamento. Gli arti anteriori non sono stati emessi. All'esame istologico si nota che le fibre muscolari in una gran parte dell'intestino si sono addensate: i fenomeni degenerativi dell'epitelio larvale sono iniziati; vi sono tuttavia delle parti dell'intestino in cui la struttura larvale appare integra. L'esame istologico della coda non mostra tessuti in degenerazione. Gli arti posteriori si trovano allo stato di tessuto primitivo indifferenziato: si nota solo un orientamento di cellule in strato superficiale: si scorge qualche vaso sanguigno: non esistono altre differenziazioni istologiche. Ad una condizione abbastanza inoltrata nelle modificazioni del tubo digerente, non corrisponde affatto lo stato di sviluppo degli arti.

In larve meno sviluppate, alle quali ho somministrato tiroide di mammiferi per un periodo di tempo più lungo, noto ancora che gli arti sono assai poco sviluppati, formati soltanto di tessuto primitivo indifferenziato, quando sono avanzate le modificazioni del tubo digerente.

Questi risultati confermano che le disarmonie di sviluppo si manifestano presto, con l'influenza della tiroide, prima ancora che sia inoltrata la fase di metamorfosi. I miei risultati del 1913 si riferivano a esemplari che già avevano emesso un arto anteriore.

25

Fisiologia. — *Ricerche sulla secrezione spermatica. Prime osservazioni sulla secrezione spermatica normale del cane* [1]. Nota II del dott. G. Amantea (assistente), presentata dal Socio L. Luciani.

Riferirò qui brevemente le prime osservazioni generali, che finora ho potuto eseguire, servendomi del metodo descritto nella Nota precedente, sulla secrezione spermatica normale del cane.

Debbo premettere che, dopo essermi assicurato che veramente nel cane l'ejaculazione dura tutto il periodo del coito, (ciò che ha servito di base per la costruzione della *vagina artificiale*, e ciò che ho facilmente potuto constatare, stimolando in modo adeguato la zona riflessogena peniena per gli atti sessuali, e quindi imitando le condizioni del coito normale, tenendo tra il pollice e l'indice, lubrificati con vasellina e applicati sulla regione retrobulbare, il pene dell'animale), sono ricorso allo stesso metodo semplice per stabilire se spermatozoi siano presenti in qualsiasi porzione del liquido spermatico eliminato durante una intera ejaculazione. Raccogliendo lo sperma

[1] Lavoro eseguito nel Laboratorio di fisiologia della R. Università di Roma, diretto dal prof. L. Luciani.

in modo frazionato, ho potuto così accertare che nell'ejaculazione del cane è possibile distinguere tre periodi: nel *primo periodo*, coincidente coi movimenti di coito (movimenti di va e vieni del treno posteriore, amplesso) e col vero orgasmo, lo sperma eliminato è lattescente e ricchissimo di spermatozoi; nel *secondo*, che incomincia dal momento in cui il cane fa l'atto di scavalcare, e si confonde senza limiti netti col successivo, lo sperma diviene sempre più povero di spermatozoi; nel *terzo* infine, il liquido eliminato, limpidissimo, è affatto privo di spermatozoi. La prima porzione di sperma, se il cane su cui si sperimenta si trovava da molto tempo in completo riposo sessuale, può anche contenere numerosi cristalli.

Nelle ricerche istituite col metodo della vagina artificiale, ho finora tenuto conto della *durata del coito fittizio*, della *quantità di sperma* raccolto, e del *numero degli spermatozoi* in esso contenuti. La durata del coito è stata misurata dal tempo trascorso dall'introduzione del pene del cane nell'apparecchio, fino al distacco spontaneo dell'animale da quest'ultimo. Lo sperma raccolto nel sacchetto interno e a pareti sottili dell'apparecchio, si è misurato versandolo con cura, e nel modo più completo possibile, in un piccolo cilindro graduato in decimi di cc. e fornito di tappo a smeriglio. Ho calcolato in media, che, la quantità di liquido che rimane aderente alla superfice interna del sacchetto è uguale a cc. 0,2; perciò al liquido versato nel cilindro ho sempre aggiunto, nel valutarne il volume, come costante, cc. 0,2. La numerazione degli spermatozoi ho potuto poi eseguire in modo assai semplice, ricorrendo al noto apparecchio di *Thoma-Zeiss*. Volendo però fare la conta subito dopo raccolto lo sperma, una difficoltà si presenta, e consiste nella mobilità di cui gli spermatozoi sono dotati. Ho ovviato a tale inconveniente diluendo nel mescolatore, invece che con le soluzioni consigliate nel caso degli eritrociti, con una soluzione di bisolfato di chinina all'1 %, che istantaneamente uccide gli spermatozoi senza alterarli. Si può anche però aspettare che gli spermatozoi perdano i loro movimenti, (ciò che avviene di solito quasi sempre dopo tre ore circa a temperatura dell'ambiente), e quindi procedere alla numerazione nello stesso modo come si pratica per gli eritrociti. Prima di prendere il campione di sperma, è sempre conveniente di agitare bene il liquido, nello stesso cilindro graduato, capovolgendolo più volte, dopo averlo chiuso col tappo. La diluizione consigliabile per la numerazione è quella di 1 : 10 - 1 : 20. Nelle mie ricerche ho sempre assunto come risultato definitivo per ciascuna numerazione la media di non meno di tre conte successive, sempre eseguite con campioni differenti di sperma, e contando gli spermatozoi distribuiti su almeno 200 quadratini dell'apparecchio di *Thoma-Zeiss*.

Finora ho così potuto sperimentare su più di 30 cani, di varia taglia e di varia razza, e tutti in perfetta maturità sessuale; non mi è stato però finora possibile di tenere esatto conto dell'età dei singoli animali.

Prima di istituire altre ricerche ho inteso il bisogno di bene orientarmi di fronte alla secrezione spermatica normale dell'animale, da me prescelto per lo studio. E qui appunto, come già ho detto, riferirò le prime osservazioni sulla durata del coito fittizio, sulla quantità di sperma e sul numero degli spermatozoi nel cane, in condizioni affatto normali.

La *durata del coito fittizio* non è la stessa in tutti i cani; ma, *per uno stesso animale, normalmente si mantiene sempre costante entro certi limiti, che non vengono mai oltrepassati.* Un cane, per es., pel quale la durata del coito fittizio oscilla normalmente fra 8′ e 12′, non la presenterà normalmente mai di 5′ a 6′ o di 15′-20′. Tenendo conto di più ejaculazioni successive, provocate intercalando tra l'una e l'altra sufficenti periodi di riposo (almeno 3-4 giorni), si può ritenere che in una discreta maggioranza di cani la durata del coito fittizio oscilla fra 7′-15′; in un altro buon numero di cani oscilla fra 15′ e 18′, come risulta dalla tabella I. Difficilmente si osserva una durata inferiore ai 7′, mentre è più facile osservarla superiore ai 18′. Comunque, posso affermare che durate troppo brevi (1′-5′) o troppo lunghe (25′-30′) non sono più da considerare come normali. Se si eseguono raccolte successive di sperma molto ravvicinate tra loro, si nota che la durata dell'ejaculazione in un primo periodo diviene sempre più lunga, mentre, quando incomincia la stanchezza dell'animale, diviene eccessivamente breve.

Tabella I.

Cane	Peso in kgr.	Durata del coito fittizio in minuti primi	Quantità dello sperma in cc.	Numero degli spermatozoi eliminati
I . . .	4,600	10	1,7	109.480.000
II . . .	4,800	7	2,6	38.740.000
III . . .	5,500	10	4,3	44.290.000
IV . . .	6,400	16	16,0	164.800.000
V . . .	6,700	15	2,7	130.680.000
VI . . .	7,000	8	4,2	151.620.000
VII . . .	7,200	15	13,3	163.590.000
VIII. . .	7,800	11	6,3	211.680.000
IX . . .	8,000	15	6,0	348.000.000
X . . .	8,600	14	7,1	188.860.000
XI . . .	9,000	9	6,8	208.080.000
XII . . .	9,600	12	7,5	248.000.000
XIII. . .	9,900	11	5,0	110.000.000
XIV. . .	10.000	10	6,5	280.800.000
XV . . .	11,100	18	16,5	199.650.000
XVI. . .	11,100	11	5.7	548.340.000
XVII . .	18,000	8	7.4	109.520.000
XVIII . .	20.000	8	7,7	93.170.000
XIX. . .	20,100	12	19,1	679.960.000
XX . . .	20.300	9	8,8	364.320.000

Esempio della durata del coito fittizio, della quantità di sperma e del numero degli spermatozoi in 18 cani normali, dopo un lungo periodo di riposo sessuale.

La *quantità di sperma* è anch'essa *normalmente costante, entro certi limiti, per ogni cane.* Se lo sperma si raccoglie per più volte, ma senza intercalare tra una raccolta e l'altra un sufficente periodo di riposo, (se si raccoglie, per es., una volta al giorno), la sua quantità è massima il primo giorno, e decresce nei successivi. Per raccolte cioè non distanziate sufficentemente, la più grande quantità di sperma corrisponde alla prima. Fra la quantità di sperma e le dimensioni dell'animale, esiste un certo rapporto, nel senso che eliminano più sperma i cani di taglia maggiore; ma esso non è assoluto. Basta, a dimostrarlo, il fatto che la maggior quantità di sperma l'ho ottenuta, alle volte, da cani di media taglia. (Vedi tabella I). Sperimentando su animali normali e in riposo sessuale, e riferendomi alla prima raccolta eseguita su ciascuno, ho finora trovato come quantità minima cc. 1,7, e come quantità massima cc. 19,1, indipendentemente dalla taglia.

In quanto poi al *numero complessivo degli spermatozoi* di ogni ejaculazione, *esso non è in rapporto nè con la durata del coito, nè con la quantità di sperma eliminata, nè con le dimensioni dell'animale.* Probabilmente però esiste un rapporto con l'età, di cui però finora non mi è stato possibile tenere esatto conto. Riferendomi sempre alla prima raccolta di sperma eseguita su cani in riposo sessuale, posso dire di aver rilevato che il numero complessivo degli spermatozoi oscilla fra 38,740,000 e 679,960,000 per un'ejaculazione (vedi tabella I).

Varî fattori (stimoli periferici, eccitamenti psichici, stato di nutrizione dell'animale ecc.) possono influenzare la durata del coito fittizio; questi stessi fattori, e molti altri ancora, direttamente o indirettamente, in senso positivo o in senso negativo, possono influire sulla complessiva quantità del liquido spermatico eliminato; numerosi fattori infine possono anche far variare la produzione e l'eliminazione degli spermatozoi; ma di essi mi occuperò in seguito.

Prima di terminare, voglio qui solo accennare ad un fatto, che, sebbene mi sembri già bene osservato, spero di poter mettere più chiaramente in rilievo in un' altra Nota. Esso consiste in questo: se si raccoglie lo sperma da un cane normale dopo un lungo e sicuro periodo di riposo sessuale, e poi si fa una seconda raccolta con un intervallo di tempo opportuno (da 2 a 3 giorni, fino a 10-12), si può nella seconda raccolta ottenere un numero di spermatozoi di molto superiore a quello della prima. Evidentemente la prima ejaculazione ha esercitato un'azione eccitante (trofica) sulla secrezione testicolare (vedi tabella II).

Tabella II.

Cane	Data della raccolta	Numero degli spermatozoi eliminati
I	15 novembre 1913	208.080.000
	21 " 1913	572.400.000
II	18 novembre 1913	93.170.000
	20 " 1913	825.500.000
III	10 novembre 1913	44.400.000
	22 " 1913	189.200.000
IV	3 gennaio 1914	211.680.000
	15 " 1914	450.210.000
V	18 gennaio 1914	110.000.000
	21 " 1914	263.320.000

Esempio del modo come può aumentare il numero degli spermatozoi quando si eseguono due raccolte successive di sperma, con un intervallo di 2 a 12 giorni tra la prima e la seconda.

CORRISPONDENZA

Il Presidente Blaserna presenta un piego suggellato, inviato dal signor A. Tricca, perchè sia conservato negli Archivi Accademici.

E. M.